

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

PCT

An:

Von Menges, A.
UEXKÜLL & STOLBERG
Beselerstrasse 4
D-22607 Hamburg
ALLEMAGNE

UEXKÜLL & STOLBERG

22. Sep. 2004

T:

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS

(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

20.09.2004

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
P 64101

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/09756

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
02.09.2003

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
04.09.2002

Anmelder

ARTUS-GESELLSCHAFT FÜR MOLEKULARBIOLOGISCHE ...

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.
4. **ERINNERUNG**

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Der Anmelder wird auf Artikel 33(5) hingewiesen, in welchem erklärt wird, daß die Kriterien für Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit, die im Artikel 33(2) bis (4) beschrieben werden, nur für die internationale vorläufige Prüfung Bedeutung haben, und daß "jeder Vertragsstaat (...)" für die Entscheidung über die Patentfähigkeit der beanspruchten Erfindung in diesem Staat zusätzliche oder abweichende Merkmale aufstellen kann (siehe auch Artikel 27(5)). Solche zusätzlichen Merkmale können z.B. Ausnahmen von der Patentierbarkeit, Erfordernisse für die Offenbarung der Erfindung sowie Klarheit und Stützung der Ansprüche betreffen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

EULEINTURNER, I Michela Digiusto

Tel. +49 89 2399-5913 8162



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

21 SEP 2004

PCT

WIPO

PCT



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT (Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P 64101	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/09756	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 02.09.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 04.09.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12Q1/68		
Anmelder ARTUS-GESELLSCHAFT FÜR MOLEKULARBIOLOGISCHE ...		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - I ☒ Grundlage des Bescheids
 - II ☐ Priorität
 - III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 16.03.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 20.09.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Ulbrecht, M Tel. +49 89 2399-7710 

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/09756

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-9 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-21 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Zeichnungen, Blätter

1/3-3/3 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

- | | |
|--------------------------------|----------------------------------|
| 1. Feststellung | |
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 5,6,9,13,15-21 |
| | Nein: Ansprüche 1-4,7,8,10-12,14 |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche 5,6 |
| | Nein: Ansprüche 1-4,7-21 |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-21 |
| | Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

zu Punkt V:

1. Es wird auf folgende Dokumente Bezug genommen:

- D1: WO 92 08800 A (SISKA DIAGNOSTICS INC) 29. Mai 1992 (1992-05-29)
- D2: PEZO V ET AL: 'Hypermutagenic in vitro transcription employing biased NTP pools and manganese cations' GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 186, Nr. 1, 20. Februar 1997 (1997-02-20), Seiten 67-72
- D3: US-A-6 090 589 (EKENBERG STEVEN J ET AL) 18. Juli 2000 (2000-07-18)
- D4: US-A-5 407 800 (GELFAND DAVID H ET AL) 18. April 1995 (1995-04-18)
- D5: US-A-5 561 058 (SIGUA CHRISTOPHER L ET AL) 1. Oktober 1996 (1996-10-01)
- D6: G. LÖFFLER AND P.E. PETRIDES: 'Biochemie und Pathobiochemie' 1998, SPRINGER, BERLIN HEIDELBERG NEW YORK

2.1 D1 offenbart ein Verfahren zur Synthese (Amplifikation) von Nukleinsäuren mittels 3SR, bei dem eine RNA-Matrize mit MMLV-Reverser-Transkriptase und T7-Polymerase in Gegenwart von 6 mM rNTPs, 1 mM dNTPs und 1 mM $MnCl_2$ inkubiert wird, wodurch die Nukleinsäuresynthese ermöglicht wird (S. 36, Z. 31 - S. 39, Z. 4; Bsp. 6; Ansprüche 9, 10, 28, 29). Das Molverhältnis von Mn^{2+} /NTPs beträgt 0,14. Damit wird der Gegenstand des Anspruchs 1 neuheitsschädlich durch D1 getroffen (Art. 33(2) PCT).

D2 offenbart ein Verfahren zur Synthese von Nukleinsäuren, bei dem ein PCR-Fragment, als DNA-Matrize mit T3-RNA-Polymerase, 0,5 mM Mn^{2+} und u.a 7,003 bzw. 7,001 mM rNTPs inkubiert wird, wodurch die Nukleinsäuresynthese ermöglicht wird (S. 68, Sp. 1, Abs. 1; Fig. 1 und Tab. 1). Das Molverhältnis Mn^{2+} /NTPs beträgt somit 0,07. Damit ist der Gegenstand des Anspruchs 1 neuheitsschädlich getroffen (Art. 33(2) PCT).

D3 offenbart ein Amplifikationsverfahren für DNA, bei dem eine DNA-Matrize mit Q β -Replikase, 1 mM $MnCl_2$ und 4 mM rNTP inkubiert wird, wodurch die Nukleinsäuresynthese ermöglicht wird (Bsp. 13). Das Molverhältnis Mn^{2+} /NTPs beträgt somit 0,25. Damit ist der Gegenstand des Anspruchs 1 neuheitsschädlich getroffen (Art. 33(2) PCT).

D4 offenbart ein Nukleinsäuresyntheseverfahren mittels reverser Transkription,

bei dem eine Matrize mit einer thermoaktiven oder thermostabilen Polymerase, MnCl_2 und dNTPs inkubiert wird, wodurch die Nukleinsäuresynthese ermöglicht wird (Sp. 15, Z. 17-35). Es werden unterschiedliche Konzentrationen von MnCl_2 und dNTPs offenbart, so dass sich u.a. ein Molverhältnis $\text{Mn}^{2+}/\text{NTPs}$ von 0,417 ergibt. Damit ist der Gegenstand des Anspruchs 1 neuheitsschädlich getroffen (Art. 33(2) PCT).

D5 offenbart ein Nukleinsäuresyntheseverfahren mittels Reverser Transkription, bei dem eine Matrize mit rTth Polymerase, 0,4 mM MnCl_2 und 0,8 mM dNTPs inkubiert wird, wodurch die Nukleinsäuresynthese ermöglicht wird (Bsp. 14). Das Molverhältnis $\text{Mn}^{2+}/\text{NTPs}$ beträgt somit 0,5. Damit ist der Gegenstand des Anspruchs 1 neuheitsschädlich getroffen (Art. 33(2) PCT).

- 2.2 D1 trifft auch die Gegenstände der Ansprüche 2-4, 7, 8, 10, 11 und 14 neuheitsschädlich (supra). Die Ansprüche 2-4, 7, 8, 10 und 14 sind gegenüber D2 nicht neu (supra). Die Ansprüche 2-4, 8, 10 und 14 werden von D3 neuheitsschädlich getroffen (supra). D4 und D5 treffen die Ansprüche 3, 8, 11, 12 und 14 neuheitsschädlich (supra). Folglich sind die Ansprüche 2-4, 7, 8, 10-12 und 14 nicht neu (Art. 33(2) PCT).
- 2.3 Die Ansprüche 5, 6, 9, 13 und 15-21 schlagen Merkmalskombinationen vor, die in keinem Dokument des Standes der Technik offenbart werden. Diese Ansprüche sind daher neu (Art. 33(2) PCT).
- 3.1 D1 offenbart u.a. Kits zur Durchführung des o.g. Verfahrens (S. 46, Z. 17-32; Ansprüche 57 und 58). Der Gegenstand des Anspruchs 15 unterscheidet sich vom in D1 repräsentierten nächstliegenden Stand der Technik, durch die im Kit enthaltenen Komponenten. D1 offenbart alle Reagenzien des o.g. Verfahrens. Diese Reagenzien sind Komponenten des Kits gemäß Anspruch 15. Da die Zusammenstellung von bekannten Reagenzien für ein bekanntes Verfahren zu einem Kit zu den Routinetätigkeiten des Fachmanns zählt, ist der Gegenstand des Anspruchs 15 nicht erfinderisch (Art. 33(3) PCT).
- 3.2 Da das Verfahren gemäß D1 auch die Kitkomponenten gemäß den Ansprüchen 16 und 18 offenbart, sind aus den unter 3.1. ausgeführten Überlegungen besagte Ansprüche ebenfalls nicht erfinderisch (Art. 33(3) PCT).
- 3.3 Die mit den Ansprüchen 9, 13, 17 und 19-21 vorgeschlagenen Merkmale werden

als Routineausführungsformen bzw. -modifikationen des beanspruchten Verfahrens bzw. Kits erachtet, die keine erfinderische Tätigkeit herstellen (Art. 33(3) PCT).

- 3.4 Der Gegenstand des Anspruchs 5 unterscheidet sich vom in D1 repräsentierten nächstliegenden Stand der Technik in der vorgeschlagenen Mn^{2+} -Konzentration. Der technische Effekt ist eine erhöhte Syntheseleistung und -ausbeute des Syntheseverfahrens. Die technische Fragestellung besteht daher in der Bereitstellung eines Nukleinsäuresyntheseverfahrens mit hoher Syntheseleistung und -ausbeute. Kein Dokument des Standes der Technik offenbart die Lösung gemäß Anspruch 5, der daher als erfinderisch erachtet wird (Art. 33(3) PCT).
- 3.5 Die gleichen Überlegungen treffen auch auf Anspruch 6 zu (Art. 33(3) PCT).
4. Die Gegenstände der Ansprüche 1-21 erscheinen gewerblich anwendbar (Art. 33(4) PCT).
- 5.1 In den Ansprüchen 1, 3, 4, 13, 15 und 20 wird der Ausdruck "NTPs" verwendet. Dieser Ausdruck steht für Nukleosidtriphosphate. "Nukleosidtriphosphate" ist der Oberbegriff unter den **Desoxyribonukleosidtriphosphate** und **Ribonukleosidtriphosphate** fallen, je nachdem, ob die Pentose Ribose oder Desoxyribose ist (siehe D6: S.150, Sp.1 sowie Abb. 71 und 7.2). Entsprechend wurde der Ausdruck "NTPs" bei der Prüfung der besagten Ansprüche auch, als sich auf rNTPs und dNTPs beziehend ausgelegt (Art. 6 PCT).
- 5.2 In den Ansprüchen 2, 3, 5, 13, 14, 16 und 20 werden die Ausdrücke "vorzugsweise" und "beispielsweise" verwendet. Derartige Ausdrücke bewirken keine Beschränkung des Schutzzumfanges eines Anspruchs, vielmehr ist ein technisches Merkmal, das einem solchen Ausdruck folgt als gänzlich fakultativ zu betrachten (siehe RI. C-III, 4.6). Das betreffende technische Merkmale hätte daher entweder gestrichen oder zum Gegenstand eines gesonderten abhängigen Anspruchs gemacht werden sollen. In Anspruch 2 ist darüber hinaus unklar, ob sich der Relativsatz, beginnend mit "welche ..." auf die RNA-Polymerase oder deren bevorzugte Ausführungsform, nämlich die DNA-abhängige RNA-Polymerase bezieht (Art. 6 PCT). Für die Prüfung wurde letzteres angenommen.
- 5.3 In Anspruch 9 ist der Ausdruck "bzw. 0.2 attomol" in Klammern gesetzt, wodurch unklar wird, ob besagter Ausdruck sich auf den Schutzzumfang des Anspruchs auswirkt (Art. 6 PCT).

- 5.4 Anspruch 14 bezieht sich auf eine Amplifikationsrate von mindestens 1000-fach. Die Verwendung eines solchen Parameters ist jedoch nur erlaubt, wenn die Erfindung in keiner anderen Weise ausreichend definiert werden kann und dieser Parameter eindeutig und zuverlässig durch Hinweise in der Beschreibung oder durch auf dem technischen Gebiet übliche objektive Verfahren bestimmt werden kann (siehe PCT-RI. III-4.7a). Diese Voraussetzungen sind in vorliegendem Fall nicht gegeben, v.a. da überdies unklar ist, was unter einer 1000-fachen Amplifikationsrate zu verstehen ist (Art. 6 PCT). Für die Prüfung wurde angenommen, dass ein Verfahren gemäß Anspruch 1 unter die Definition von Anspruch 14 fällt.
- 5.5 Anspruch 21 bezieht sich auf einen Kit, welcher als eine Zusammenstellung von Produkten erachtet wird. Besagter Anspruch beinhaltet als zusätzliches Merkmal Anweisungen zur Durchführung des Verfahrens gemäß einem der Ansprüche 1-14. Solche Anweisungen charakterisieren eher ein Verfahren unter Verwendung des Kits, denn den Kit als solchen und verschleiern daher den Schutzzumfang des Anspruchs, da durch besagtes technisches Merkmal seine Kategorie unklar wird (Art. 6 PCT).

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP2003/009756



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P 64101	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2003/009756	International filing date (day/month/year) 02 September 2003 (02.09.2003)	Priority date (day/month/year) 04 September 2002 (04.09.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12Q 1/68		
Applicant ARTUS-GESELLSCHAFT FÜR MOLEKULARBIOLOGISCHE DIAGNOSTIK UND ENTWICKLUNG MBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.
☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16 March 2004 (16.03.2004)	Date of completion of this report 20 September 2004 (20.09.2004)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/009756

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages 1-9, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages 1-21, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
 pages 1/3-3/3, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 03/09756

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	5, 6, 9, 13, 15-21	YES
	Claims	1-4, 7, 8, 10-12, 14	NO
Inventive step (IS)	Claims	5, 6	YES
	Claims	1-4, 7-21	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-21	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**1. Reference is made to the following documents:**

- D1: WO 92 08800 A (SISKA DIAGNOSTICS INC) 29 May 1992 (1992-05-29)
- D2: PEZO V ET AL: 'Hypermutagenic in vitro transcription employing biased NTP pools and manganese cations' GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Vol. 186, No. 1, 20 February 1997 (1997-02-20), pages 67-72
- D3: US-A-6 090 589 (EKENBERG STEVEN J ET AL) 18 July 2000 (2000-07-18)
- D4: US-A-5 407 800 (GELFAND DAVID H ET AL) 18 April 1995 (1995-04-18)
- D5: US-A-5 561 058 (SIGUA CHRISTOPHER L ET AL) 1 October 1996 (1996-10-01)
- D6: G. LÖFFLER AND P.E. PETRIDES: 'Biochemie und Pathobiochemie' 1998, SPRINGER, BERLIN HEIDELBERG NEW YORK

- 2.1 D1 discloses a method for synthesising (amplifying) nucleic acids by means of 3SR, in which an RNA matrix with MMLV reverse transcriptase and T7 polymerase are incubated in the presence of

6 mM rNTPs, 1mM dNTPs and 1mM MnCl_2 , thereby enabling the nucleic acid synthesis (page 36, line 31 to page 39, line 4; example 6; claims 9, 10, 28, 29). The molar ratio of Mn^{2+} /NTPs is 0.14. D1 thus prejudices the novelty of the subject matter of claim 1 (PCT Article 33(2)).

D2 discloses a method for synthesising nucleic acids, in which a PCR fragment as DNA matrix with T3-RNA polymerase, 0.5 mM Mn^{2+} and, *inter alia*, 7.003 or 7.001 mM rNTPs are incubated, thereby enabling the nucleic acid synthesis (page 68, column 1, first paragraph; figure 1 and table 1). The molar ratio of Mn^{2+} /NTPs is therefore 0.07. D2 thus prejudices the novelty of the subject matter of claim 1 (PCT Article 33(2)).

D3 discloses a DNA amplification method in which a DNA matrix with Q β -replicase, 1 mM MnCl_2 and 4 mM rNTP are incubated, thereby enabling the nucleic acid synthesis (example 13). The molar ratio of Mn^{2+} /NTPs is therefore 0.25. D3 thus prejudices the novelty of the subject matter of claim 1 (PCT Article 33(2)).

D4 discloses a nucleic acid synthesising method using reverse transcription, in which a matrix with a thermoactive or thermostable polymerase, MnCl_2 and dNTPs are incubated, thereby enabling the nucleic acid synthesis (column 15, lines 17 to 35). D4 discloses different concentrations of MnCl_2 and dNTPs, resulting, *inter alia*, in a molar ratio of Mn^{2+} /NTPs of 0.417. D4 thus prejudices the novelty of the subject matter of claim 1 (PCT Article 33(2)).

D5 discloses a nucleic acid synthesising method using reverse transcription, in which a matrix with rTth polymerase, 0.4 mM MnCl_2 and 0.8 mM dNTPs are incubated, thereby enabling the nucleic acid synthesis (example 14). The molar ratio of Mn^{2+} /NTPs is therefore 0.5. D5 thus prejudices the novelty of the subject matter of claim 1 (PCT Article 33(2)).

2.2 D1 also prejudices the novelty of the subject matter of claims 2 to 4, 7, 8, 10, 11 and 14 (see above). Claims 2 to 4, 7, 8, 10 and 14 lack novelty over D2 (see above). D3 prejudices the novelty of claims 2 to 4, 8, 10 and 14 (see above). D4 and D5 prejudice the novelty of claims 3, 8, 11, 12 and 14 (see above). Consequently, claims 2 to 4, 7, 8, 10 to 12 and 14 lack novelty (PCT Article 33(2)).

2.3 Claims 5, 6, 9, 13 and 15 to 21 propose feature combinations that are not disclosed in any prior art document. These claims are therefore novel (PCT Article 33(2)).

3.1 D1 discloses, *inter alia*, kits for implementing the aforementioned method (page 46, lines 17 to 32; claims 57 and 58). The subject matter of claim 15 differs from the closest prior art represented by D1 by virtue of the components contained within the kit. D1 discloses all reagents of the aforementioned method. Those reagents are components of the kit as per claim 15. Since the combining of known reagents for a known method to produce a kit is routine to a person skilled in the art, the subject matter of claim 15 is not inventive (PCT Article 33(3)).

- 3.2 Since the method as per D1 also discloses the kit components as per claims 16 and 18, these claims are also non-inventive for the reasons stated under point 3.1. (PCT Article 33(3)).
- 3.3 The features proposed in claims 9, 13, 17 and 19 to 21 are regarded as routine embodiments of or routine modifications to the claimed method or kit which do not involve an inventive step (PCT Article 33(3)).
- 3.4 The subject matter of claim 5 differs from the closest prior art represented by D1 by virtue of the proposed Mn^{2+} concentration. The technical effect thereof is that of increasing the synthesis capacity and yield of the synthesis method. The technical problem of interest is therefore that of developing a nucleic acid synthesis method with increased synthesis capacity and yield. No prior art document discloses the solution as per claim 5, which is therefore considered inventive (PCT Article 33(3)).
- 3.5 The same also applies to claim 6 (PCT Article 33(3)).
4. The subject matter of claims 1 to 21 appears to be industrially applicable (PCT Article 33(4)).
- 5.1 Claims 1, 3, 4, 13, 15 and 20 use the term "NTPs", which stands for nucleoside triphosphates. The "nucleoside triphosphates" of the preamble fall under **deoxyribonucleoside** triphosphates and **ribonucleoside** triphosphates, depending on whether the pentose is ribose or deoxyribose (see D6: page 150, column 1 and figures 7.1 and 7.2).

Consequently, when examining the above claims, the term "NTPs" was interpreted as also referring to rNTPs and dNTPs (PCT Article 6).

- 5.2 The terms "preferably" and "for example" are used in claims 2, 3, 5, 13, 14, 16 and 20. Expressions such as this do not restrict the scope of protection of a claim, rather a technical feature preceded by such an expression is considered entirely optional (see PCT Guidelines, paragraph III-4.6). The technical features concerned should therefore have been deleted or made the subject of separate dependent claims. In claim 2 it is further unclear whether the relative clause beginning with "which..." refers to the RNA polymerase or to preferred embodiments thereof, namely the DNA-dependent RNA polymerase (PCT Article 6). The latter was assumed to be correct for the purposes of the examination.
- 5.3 Claim 9 contains the words "or 0.2 attomol" between parentheses, it thus not being clear whether those words affect the scope of protection of the claim (PCT Article 6).
- 5.4 Claim 14 refers to an at least 1000-fold amplification rate. The use of this type of parameter, however, is allowed only when the invention cannot be adequately defined in any other way and when the parameter can be determined unambiguously and reliably from indications in the description or using conventional objective methods in the relevant technical field (see PCT Guidelines, paragraph III-4.7a). These prerequisites are not satisfied in the present case, predominantly since it is not clear what should be understood by a

1000-fold amplification rate (PCT Article 6). For the purposes of the examination it was assumed that a method as per claim 1 falls under the definition of claim 14.

- 5.5 Claim 21 relates to a kit, which is regarded as a combination of products. Said claim contains as an additional feature indications relating to the implementation of the method as per one of claims 1 to 14. This type of indication characterises a method using the kit rather than the kit as such and blurs the scope of protection of the claim, since as a result of said technical feature the category of the claim is not clear (PCT Article 6).